

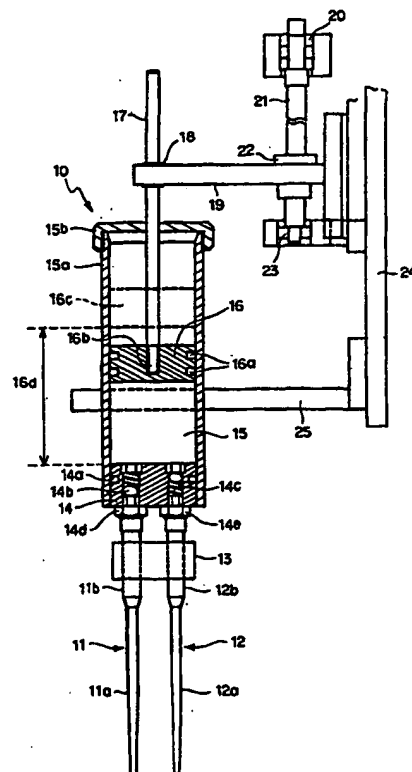
<p>(51) 国際特許分類7 G01N 1/28, 1/00, 30/00, 30/48, B03C 1/00, C12Q 1/68</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/42410</p> <p>(43) 国際公開日 2000年7月20日(20.07.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00204</p> <p>(22) 国際出願日 2000年1月18日(18.01.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/9672 1999年1月18日(18.01.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) プレジジョン・システム・サイエンス株式会社 (PRECISION SYSTEM SCIENCE CO., LTD.)[JP/JP] 〒206-0812 東京都稲城市矢野口1843-1 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 田島秀二(TAJIMA, Hideji)[JP/JP] 〒206-0812 東京都稲城市矢野口1843-1 プレジジョン・システム・サイエンス株式会社内 Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 土橋 皓(DOBASHI, Akira) 〒105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目17番3号 第12森ビル6階 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>

(54) Title: CONCENTRATION DEVICE USING MAGNETIC PARTICLES AND METHOD THEREFOR

(54) 発明の名称 磁性粒子を利用した濃縮装置およびその方法

(57) Abstract

A concentration device using magnetic particles and a method therefor, capable of concentrating efficiently and positively a large volume of liquid with a simple structure and on a small device scale, the device comprising a sucking liquid passage permitting a sucking-direction passing only of liquid, a discharging liquid passage permitting a discharging-direction passing only of liquid, a magnetic force means capable of imparting and removing a magnetic field, which can separate magnetic particles, that have captured directly or indirectly object matters suspending in the liquid, by attracting the particles into the liquid passages, to and from the inside of at least one of the liquid passages from the outside of the at least one of the liquid passages, a storing unit communicating with each of the liquid passages, for storing sucked liquid, and a pressure regulation means for regulating a pressure in the storing unit, for sucking and discharging of the liquid.



磁性粒子を利用した濃縮装置およびその方法に関し、簡単な構成によって、小な装置規模によって大容量の液体の濃縮を効率的かつ確実に行うことができることを目的とする。液体の吸引方向のみの通過が可能な吸引用液通過路と、液体吐出方向のみの通過が可能な吐出用液通過路と、その液通過路の外部から、液に懸濁する目的物質を直接的または間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内に吸着させることによって分離することが可能な磁場を少なくとも一方のその通過路内に及ぼしかつ除去することが可能な磁力手段と、その各液通過路と連し吸引された液体を貯溜する貯溜部と、その貯溜部内の圧力を調整して液体を引しかつ吐出する圧力調整手段とを有するように構成する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AG アンティグア・バーブーダ	DZ アルジェリア	LC セントルシア	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LR リベリア	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LS レソト	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LT リトアニア	SL シェラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LV ラトヴィア	SZ スワジランド
BE ベルギー	GE グルジア	MA モロッコ	TD チャード
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BR ブラジル	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BY ベラルーシ	GW ギニア・ビサウ	共和国	TT トリニダード・トバゴ
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TZ タンザニア
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	MZ モザンビーク	VN ヴェトナム
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	YU ユーゴスラヴィア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュー・ジーランド	
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

## 明細書

## 磁性粒子を利用した濃縮装置およびその方法

## 5 技術分野

- 本発明は、磁性粒子を利用した濃縮装置およびその方法に係る。特に、工学分野、医療分野、農学分野、理学分野、薬学分野等のさまざまな分野で、例えば、抗体、抗原等の免疫物質、遺伝子物質（DNA，RNA，mRNA、オリゴヌクレオチド等）、蛋白質、ホルモン物質等の生体高分子、細菌、
- 10 ウィルス、細胞等の生体、その他の医療薬品等の有用物質等について、分離、抽出または回収等の処理を行うために、それに関連して大容量の液体に懸濁する微量の細菌等の目的物質等を濃縮して小容量の液体に懸濁するように濃度を高めることを自動的にかつ確実にを行う医療、検査、診断、治療、研究、定量、定性、測定等に適用する磁性粒子を利用した濃縮装置および磁性
- 15 粒子を利用した濃縮方法に関する。

## 技術的背景

- 近年、細菌等（例えば、O-157、クリプトリポリジウム、サルモネラ菌等の水系溶存細菌、DNA等の遺伝物質）の生体もしくは生体高分子等の
- 20 目的物質について、分離、抽出、検査、測定等の種々の処理を行う必要性が高まっている。

そのためには、細菌等を培養し、また、遺伝物質等の場合には、増幅を行って目的物質の濃度を高めた上で種々の処理を行う必要性があった。

- ところで、前記細菌等や遺伝物質等の目的物質は、大容量（例えば、数リットル）の液体に微量懸濁した状態で得られるのが普通である。この目的物質について培養や増幅を行うには、この懸濁液から目的物質を抽出または
- 25 分離する必要がある。

そのために従来では、目的物質が懸濁する大容量の懸濁液をフィルタを通過させて分離、抽出を行っていた。しかし、通常、その懸濁液には目的物質

以外の夾雑物が数多く含まれており、そのような濁りや汚れがあるために、そのフィルタがメンブレンフィルタ等の場合には目詰まりを起こしやすく、大容量の懸濁物から目的物質を分離するのが困難または時間や手間がかかるという問題点を有していた。

- 5     また、細菌等のように人間等の生物に影響を与えるものを扱う場合を考慮して、人間の手を煩わせることの少ない、自動的に処理を行えらるとともに、懸濁液の接液部分の取り替えが可能で洗浄の必要性がなく効率良く使用できかつ信頼性のある装置が望まれている。

- 10     そこで、本発明の第1の目的は、大容量の液体の濃縮を、効率的、迅速、かつ確実に行うことができる磁性粒子を利用した濃縮装置および磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

第2の目的は、夾雑物の存在によって濃縮、分離または抽出処理に影響を受けない磁性粒子を利用した濃縮装置および磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

- 15     第3の目的は、懸濁液との接液部分が容器やディスコ・チップ等の取り替え可能となる構造をとることを可能とし、また、単純な機構を用いることによって、洗浄の必要のない扱い易くまた低価格の磁性粒子を利用した濃縮装置および磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

- 20     第4の目的は、人間の手を煩わせることのない自動化処理および一貫性のある処理に適した磁性粒子を利用した濃縮装置および磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

- 25     第5の目的は、細菌等の微生物やDNA物質等の生体高分子を扱うのに適した磁性粒子を利用した濃縮装置および磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。特に、DNA等の遺伝物質のPCR法による増幅に適した磁性粒子を利用した濃縮装置および磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

#### 発明の開示

以上の技術的課題を解決するために、第一の発明は、吸引方向のみの液体

の通過が可能な吸引用液通過路と、吐出方向のみの液体の通過が可能な吐出用液通過路と、その液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的または間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を少なくとも一方のその液通過路内に及ぼしかつ磁場を除去することが可能な磁力手段と、その各液通過路と連通し吸引された液体を貯溜する貯溜部と、その貯溜部内の圧力を調整して液体を吸引し

5 かつ吐出する圧力調整手段とを有するものである。

ここで、「目的物質を直接的に捕獲する」とは、細菌等の目的物質を磁性粒子と結合させることによって捕獲することをいう。そのためには、目的物質と結合する物質をコーティング等によって磁性粒子にもたせる必要がある

10 。例えば、前記磁性粒子にガラスをコーティングし、そのガラスにDNA等の遺伝物質を吸着させて捕獲するような場合である。

「目的物質を間接的に捕獲する」とは、もともと分かれて独立して存在した磁性粒子、目的物質および担体を液中で懸濁させることによって、その担体が磁性粒子および目的物質の双方と結合することによって磁性粒子が目的物質を捕獲することをいう。その担体としては、例えば、ハイドロキシアパタイト等のゲル状物質やセルロースキャリア等がある。ハイドロキシアパタイト等のゲル状物質を担体として用いた場合には、そのゲル状物質が磁性粒子および目的物質の双方を内部に取り込むことによって捕獲する。また、セルロースキャリアを担体として用いた場合には、セルロースキャリアが有する穴や空隙に磁性粒子および目的物質を付着等をさせることによって捕獲する。捕獲は、目的物質が含まれる液体中に、磁性粒子または磁性粒子と担体を投入して混合または攪拌等を行うことによって可能である。また、磁性粒子に捕獲された目的物質は、攪拌や熱等による物理的处理によって、または

20 ハイドロキシアパタイトのようにpHを調整して溶かしたり、試薬を混合する等の化学的处理によって磁性粒子から溶出または乖離することができる。

また、その吸引用液通過路および吐出用液通過路は、例えば、逆止弁等によって液体の吸引方向および吐出方向の通過のみを可能とする。逆止弁は、吸引用液通過路および吐出用液通過路の一部に設けられていても良いし、そ

の吸引用液通過路および吐出用液通過路の外、例えば貯溜部に付属して設けられていても良い。尚、前記液通過路は、前記吸引口および吐出口を異なる容器に挿入した場合には、磁性粒子を分離する前の懸濁液と、後の残留液とが分けられるので、処理の効率化を図ることができる。同一の容器に挿入した場合にはその液通過路は循環路を形成し、吸引口と吐出口を入れ換えることなく分離を繰り返すことができる。

第一の発明によると、大容量の懸濁液を液通過路を通過させ、または吸引用液通過路から吸引し、吐出用液通過路から吐出するという単純な動作を全懸濁液について繰り返して行う際に、自動的に懸濁液中の磁性粒子を分離するので、懸濁液中の全磁性粒子を、簡単な構成で漏れなく、効率的かつ容易に分離することができる。

本発明によれば、分離した磁性粒子を任意の容量の液に再懸濁することによって、任意の倍率の濃縮を行うことができる。従って、その後の培養工程や増幅工程の効率化を図り、効率的にまたは短時間に目的物質が希薄に懸濁した大容量の懸濁液についてその濃度を高めることができる。

本発明によれば、磁性粒子によって目的物質を捕獲して、液通路の外部から、磁場を及ぼして磁性粒子を液通過路に吸着させて分離した状態で液通過路内に液を通過させることが可能である。したがって、夾雑物を吸引吐出動作によって排除できるので目的物質の分離、抽出等が妨げられることがない。

また、磁性粒子が担体を介して間接的に目的物質を捕獲する場合には、磁性粒子に対するコーティング等の加工を行う必要がないので、低価格で処理を行うことができる。

第二の発明は、第一の発明において、前記吸引用液通過路および吐出用液通過路が前記貯溜部の下側で下方に突出し間隔を空けて並設され、その貯溜部の上側に前記圧力調整手段が設けられたものである。本発明によれば、吸引用液通過路と吐出用液通過路とが間隔を空けて並設されているので、その間隔によって仕切られるような、容器を用意して各液通過路を挿入すれば、移動することなく吸引された液を別容器に吐出することができる。第二の発

明によれば前記吸引用液通過路および吐出用液通過路が前記貯溜部の下側で下方に突出するように設けられその貯溜部の上側に前記圧力調整手段を設けるようにしたので装置をコンパクトに製造することができるとともに、特殊容器を用いることによって濃縮の処理を効率化できる。

- 5 第三の発明は、第一の発明または第二の発明において、前記吸引用液通過路と前記吐出用液通過路は、各々、細径の先端部分と太径の部分との略2段形状に形成されたものである。これによって、液通過路は、開口部が細い容器に対しても挿入可能であり、また、太径の部分で磁性粒子の分離を行うことにより、目詰まり等を防止することができる。第三の発明によれば、開口
- 10 部が細い容器に対しても挿入可能であり、また、磁性粒子の分離を行う際に目詰まり等を防止することができる。

- 第四の発明は、第一の発明ないし第三の発明のいずれかにおいて、前記磁力手段は、永久磁石、電磁石または磁性体物質を前記液通過路の少なくとも一方の外部に設けたものである。尚、永久磁石の場合には、その液通過路に
- 15 対して接近および離間可能に設けることによって磁場を及ぼしかつ除去する。

- また、電磁石の場合には、電流を流しまたは遮断することによって磁場を発生しかつ除去する。さらに磁性体物質の場合には、その磁性体物質を磁化させまたは消磁させることによって磁場を発生しかつ除去する。これによ
- 20 て、確実に磁場を及ぼしかつ除去することができる。第四の発明によれば、液通過路の内部に確実に磁場を及ぼしかつ除去することができる。

- 第五の発明は、第一の発明ないし第四の発明のいずれかにおいて、前記貯溜部はシリンダを有し、前記圧力調整手段は、そのシリンダ内に嵌挿して摺動するプランジャを有するものである。ここで、貯溜部内では、吸引された
- 25 液体の液面とピストンの下端面とは空気層を介して接触しないように制御するのが好ましい。これによって、機構部分と懸濁液との接触が避けられるので、洗浄なしに再利用が可能となる。また、そのプランジャの外周に沿ってOリング用溝を設け、弾性体で形成されたOリングをその溝に装着したものが好ましい。これによって、液漏れを確実に防止することができる。第五の

発明は、貯溜部内では、吸引された液体の液面とピストンの下端面とは空気層を介して接触しないように制御することによって、汚染のおそれがない信頼性のある処理を行うことができる。

第六の発明は、第一の発明ないし第五の発明のいずれかにおいて、前記圧力調整手段は、その貯溜部に設けられた通気路と、その通気路を介してその貯溜部内の気体の吸入および排出を行うポンプとを有するものである。これによって、貯溜部に複雑な機構的な部分を設けずに済み、構造が簡単化できかつ洗浄等が容易である。第六の発明は、前記圧力調整手段は、前記貯溜部と通気路を介して、その貯溜部内の気体の吸入および排出を行うポンプと連通したものである。これによって、貯溜部には、複雑な機構的な部分を設けずに済み、構造が簡単化できるので、洗浄等が容易である。

第七の発明は、第一の発明ないし第六の発明のいずれかにおいて、前記貯溜部は前記圧力調整手段に対して着脱可能に設けられたものである。ここで、吸引用液通過路および吐出用液通過路は前記貯溜部と一体に形成しても良いし、貯溜部に対して着脱可能に設けても良い。本発明によれば、貯溜部は、吸引用液通過路および吐出用液通過路を含めて圧力調整手段に対して着脱可能に設けられているので、新たな貯溜部を装着することによって、洗浄することなく処理を進めることができるので迅速に処理が可能である。第七の発明によれば、貯溜部を圧力調整手段に対して着脱可能に設けたため、新たな貯溜部を装着することによって、洗浄することなく迅速に処理を進めることができるので効率が良い。

第八の発明は、第七の発明において、前記圧力調整手段は、前記貯溜部を取り外した場合には、液体の吸引方向および吐出方向の双方の通過が可能な1本のピペット・チップが装着可能なものである。これによって、同一の圧力調整手段を用いて、懸濁液と接触する部分のみを交換することによって、効率的に処理を行うことができる。第八の発明は、前記圧力調整手段から貯溜部を取り外した場合には、1本のピペットチップが装着可能なものである。これによって、同一の圧力調整手段を用いて、懸濁液と接触する部分のみを交換することによって、効率的に処理を行うことができる。



第九の発明は、第一の発明ないし第八の発明のいずれかにおいて、前記磁性粒子には、ハイドロキシアパタイトが焼結して固定され、その磁性粒子が懸濁する液のpHを調整して前記ハイドロキシアパタイトをゾル化またはゲル化することによって、前記ハイドロキシアパタイトに目的物質を捕獲させ  
5 または乖離するものである。本発明によれば、pHの調整という簡単な作業によって、ハイドロキシアパタイトをゲル化またはゾル化して磁性粒子に目的物質を捕獲させまたは目的物質を溶出または乖離させることができる。

第十の発明は、吸引口および吐出口を有し内部を液体が通過する液通過路と、その液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的または間接  
10 的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を液通過路内に及ぼすことが可能な磁力手段と、その液通過路に設けられ、その液通過路の液体の移送方向に沿って、液体を移送するポンプを有するものである。

これによって、簡単な構成でかつ簡単な制御で、懸濁液中の磁性粒子を漏  
15 れなく液通過路中に分離し、また、再懸濁することができる。

なお、「ポンプ」として、例えば、その液通過路の一部または全体を弾性体で形成し、液体の移送方向に沿って、その液通過路を外部から順次収縮させながら液体を移送する蠕動ポンプを用いても良い。

その際、その懸濁液と移送のための機構的部分や磁力手段との接触がない  
20 ので、その液通過路の洗浄または取り替えのみで、再利用することができる。細菌等の目的物質が懸濁する懸濁液と、機構的な部分との接触を避けまたは最小限にすることができる。特に、その弾性体部分を切断して取り出し可能に、例えば、カートリッジ化等によって形成することができる。この場合には、その部分に吸着した磁性粒子とともに取り出して再懸濁等の処理を行  
25 うことができる。

第十の発明によると、大容量の懸濁液を液通過路を通過させ、または吸引用液通過路から吸引し、吐出用液通過路から吐出するという単純な動作を全懸濁液について繰り返して行う際に、自動的に懸濁液中の磁性粒子を分離するので、懸濁液中の全磁性粒子を、簡単な構成で漏れなく、効率的かつ容易

に分離することができる。

本発明によれば、分離した磁性粒子を任意の容量の液に再懸濁することによって、任意の倍率の濃縮を行うことができる。

また、磁性粒子が担体を介して間接的に目的物質を捕獲する場合には、磁性粒子に対するコーティング等の加工を行う必要がないので、低価格で処理を行うことができる。

第十一の発明は、第十の発明において、前記液通過路の途中に、分離した磁性粒子を再懸濁して吐出するために液通路を切り替える切り替え機構を設けたものである。ここで、切替えのためには、例えば、液通過路の途中に貫通孔を有するロータを回転可能に設け、懸濁液から磁性粒子を分離する場合には、その液通過路と連通するようにロータの回転位置を設定し、再懸濁の際には、液体の吸引方向および吐出方向の双方の通過が可能であって、内部に磁場を及ぼすことが可能な磁力手段を備えた別の液通過路（ピペット手段）と連通するような回転位置に設定するものであっても良い。第十一の発明によれば、再懸濁用の液通過路を分離用の液通過路と異なるものを用いることによって、効果的に分離と再懸濁を行うことができる。

第十二の発明は、第十の発明または第十一の発明のいずれかにおいて、前記液通過路の全体または液通過路の一部は、分離した磁性粒子を吸着したまま、取り出し可能に設けられたものである。取り出し可能とする構成としては、例えば、液通過路全体を枠体等に取り付けている部材を外すことによって、または、液通過路の一部のみが液通過路の他の部分から取り外し可能に設けられているような場合がある。取り外した部分を、そのまま処理を行うための装置等に直接取り付けて用いるようにしても良い。第十二の発明によれば、液通過路の全部または一部を取り出すことで、分離した磁性粒子を利用することができるので、濃縮等の処理を容易に行うことができる。

第十三の発明は、第十の発明ないし第十二の発明のいずれかにおいて、前記磁性粒子には、ハイドロキシアパタイトが焼結して固定され、その磁性粒子が懸濁する液のpHを調整して前記ハイドロキシアパタイトをゾル化またはゲル化することによって、前記ハイドロキシアパタイトに目的物質を捕獲

させまたは乖離させるものである。本発明によれば、pHの調整という簡単な作業によって、ハイドロキシアパタイトをゲル化またはゾル化して磁性粒子に目的物質を捕獲させ、または目的物質を溶出または乖離させることができる。

5 第十四の発明は、第一の発明ないし第十三の発明のいずれかに記載された前記濃縮装置と、その濃縮装置自体および／またはその濃縮装置外に載置された容器、の移動を可能とする移動手段と、前記液体駆動手段、磁力手段および／または移動手段の動作の制御を行う制御手段と、を有するものである。これによって、濃縮処理を一括して自動化することができる。

10 第十五の発明は、第十四の発明において、前記容器は、前記液通過路の吸引口と前記液通過路の吐出口が各々挿入される2つの槽を有し、2つの槽を仕切る仕切部の厚さは、その吸引口と吐出口との間の距離よりも薄く形成されるとともに、各液収容部の底部は、その仕切部に向かって下がり勾配の斜面を有するものである。これによって、大容量の液体を残らず吸引し、吐出  
15 することができる。迅速にかつ効率的に濃縮を行うことができる。

第十六の発明は、第十四の発明において、前記制御手段は、前記磁力手段がその液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、目的物質が直接的または間接的に捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引して、前記液通過路を通りその懸濁液を通過させることによって  
20 、前記磁性粒子をその液通過路の内壁に吸着させて分離し、前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に前記吸引口および吐出口を挿入し、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引し  
かつ吐出することによって再懸濁して細菌等の目的物質の懸濁液を濃縮するものである。

25 ここで、前記分離は、液通過路が吸引すべき懸濁液がなくなるまで続ける。吸引すべき懸濁液がなくなった場合においては、さらに、吐出された液についてその液通過路によって吸引することによって分離を行うことができる。このようにして、分離を繰り返すことによって、磁性粒子の分離をより確実に行うことができる。

第十七の発明は、懸濁液中の細菌等の目的物質を直接的または間接的に磁性粒子に捕獲させる捕獲工程と、目的物質を捕獲した磁性粒子が懸濁する第1の容量をもつ懸濁液を液通過路を通過させる際に、その液通過路の外部からその液通過路内に磁場を及ぼすことによってその通過路の内壁に磁性粒子を吸着して分離する分離工程と、目的物質を捕獲した磁性粒子を分離したその液通過路に磁場を及ぼさない状態で、第1の容量よりも小さい第2の容量をもつ液を通過させることによってその液中に目的物質を捕獲した磁性粒子を再懸濁する再懸濁工程と、その懸濁液中に懸濁する目的物質を捕獲した磁性粒子から目的物質を溶出し、磁性粒子のみを分離して、目的物質が濃縮された懸濁液を得る溶出工程とを有するものである。

ここで、目的物質のみが濃縮された懸濁液を得るための溶出工程は、例えば、懸濁攪拌等の物理的な処理によって、または所定の試薬等を混合した化学的な処理によって行われる。

第十八の発明は、第十七の発明において、前記分離工程は、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器からその懸濁液を吸引して、その液通路の外部から磁場を及ぼす状態で、その懸濁液をその液通過路を通過させることによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引しかつ吐出することによって再懸濁する。

第十九の発明は、第十七の発明または第十八の発明のいずれかにおいて、前記分離工程は、磁力手段によって吸引用液通過路および吐出用液通過路に外部から磁場を及ぼす状態で、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引用液通過路を介して懸濁液を貯溜部に吸引し、その吐出用液通過路を介して貯溜部から吐出することによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さくかつその貯溜部の容量と同程度以上の第2の容量の液が収容された容器に前記吸引用液通過路と吐出用液

通過路を挿入し、磁力手段により磁場を及ぼさない状態で、第２の容量の液を吸引しかつ吐出することによって再懸濁するものである。

また、「第１の容量よりも小さくかつその貯溜部の容量と同程度以上の第２の容量」としたのは、その濃縮装置の各液通過路の内壁に吸着して分離させた磁性粒子を効率的かつ確実に再懸濁させるためには、その装置が分離した磁性粒子に一度の吸引または吐出で加えうる最大の液量である貯溜部を満たす程度の液量を用いれば、最大限効率的に磁性粒子を内壁から剥がして再懸濁を行うことができるからである。

第二十の発明は、第十七の発明ないし第十九の発明のいずれかにおいて、  
10 前記再懸濁工程によって再懸濁された懸濁液が収容された容器に、液体の吸引方向および吐出方向の双方の液体の通過が可能な液通過路およびその通過路と連通し第２の容量よりも小さい容量をもつ貯溜部をもち、その液通過路の外部から液通過路内に磁場を及ぼしかつ除去する磁力手段をもつピペット装置によって、その液通過路に磁場を及ぼした状態でその懸濁液を吸引および吐出することにより懸濁液中の磁性粒子を分離し、第２の容量よりも小さい第３の容量をもつ液体中に再懸濁したものである。

第二十一の発明は、第十七の発明ないし第二十の発明のいずれかにおいて、前記分離工程は、第１の容器に収容された全懸濁液を第２の容器に移した後、その第２の容器に収容された液を、その液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、その液通過路を介して吸引し、その第１の容器にその液通過路を介して吐出させることによって、第２の容器に収容された全液を第１の容器に移すものである。

第二十二の発明は、第十七の発明ないし第二十一の発明のいずれかにおいて、前記分離工程は、第１の容器に収容された全懸濁液を第２の容器に移した後、その第２の容器に収容された液を、その吸引用液通過路およびその吐出用液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、前記吸引用通過路を介して吸引し、その第１の容器に吐出用通過路を介して吐出させることによって、第２の容器に収容された全液を第１の容器に移すものである。これによって、懸濁液中に残留している磁性粒子をも漏れなく分離することがで

きる。また、第1の容器に全液が移った場合には、さらに第十八の発明により繰り返すことが可能である。

第十六の発明ないし第二十二の発明によると、大容量の懸濁液を液通過路を通過させ、または吸引用液通過路から吸引し、吐出用液通過路から吐出する  
5 するという単純な動作を全懸濁液について繰り返して行う際に、自動的に懸濁液中の磁性粒子を分離するので、懸濁液中の全磁性粒子を、簡単な構成で漏れなく、効率的かつ容易に分離することができる。

本発明によれば、分離した磁性粒子を任意の容量の液に再懸濁することによって、任意の倍率の濃縮を行うことができる。従って、細菌等の培養工程  
10 やDNA等の増幅工程を実行する前段階として、効率的にまたは短時間で、目的物質が希薄に懸濁した大容量の懸濁液について、その濃度を高めることができる。

細菌等の目的物質が懸濁する懸濁液と、機構的な部分との接触を避けまたは最小限にすることができるので、細菌等の微生物やDNA物質等の生体高  
15 分子を扱うのに適している。また、磁性粒子が担体を介して間接的に目的物質を捕獲する場合には、磁性粒子に対するコーティング等の加工を行う必要がないので、低価格で処理を行うことができる。

#### 図面の簡単な説明

20 図1は、本発明の第一の実施の形態に係る濃縮装置である。

図2は、本発明の第二の実施の形態に係る濃縮装置である。

図3は、本発明の第三の実施の形態に係る説明図である。

図4は、本発明の第四の実施の形態に係る濃縮装置である。

25 発明を実施するための最良の形態

本発明に係る磁性粒子を利用した濃縮装置等の実施の形態について、図面に基  
づいて説明する。また、この実施の形態は特に指定のない限り本発明を制限するものではない。第一の実施の形態に係る濃縮装置10を、図1に基  
づいて説明する。

その濃縮装置 1 0 は、略円筒状に形成され、吸引方向のみの液体の通過が可能な吸引用液通過路 1 1 と、略円筒状に形成され、吐出方向のみの液体の通過が可能な吐出用液通過路 1 2 とが下方に向けて平行して突出するように設けられている。

- 5     その吸引用液通過路 1 1 と吐出用液通過路 1 2 はポリプロピレン等によって形成されている。各液通過路 1 1、1 2 は、細径の先端部 1 1 a、1 2 a と、やや径の太い分離領域部 1 1 b、1 2 b とから形成されている。各径の太さは、例えば、細径が口径約 2 ～ 3 mm のオーダ程度であり太径の口径が約 5 mm のオーダ程度であり、その各液通過路 1 1、1 2 の長さは、例えば
- 10   、約 1 0 cm のオーダ程度である。その分離領域部 1 1 b、1 2 b の外部には、その液通過路 1 1 b、1 2 b 内に磁場を及ぼしその液通過路 1 1、1 2 を通過する懸濁液中の磁性粒子を、その液通過路 1 1、1 2 の内壁に吸着して分離することが可能となる大きさの磁場を及ぼし、また除去する磁力手段 1 3 が設けられている。その磁力手段 1 3 としては、例えば、永久磁石をそ
- 15   の液通過路 1 1、1 2 の並び方向およびその液通過路 1 1、1 2 の突出方向に対して直交する方向に沿って、その液通過路 1 1、1 2 に対して接近および離間可能に設けることによって、または電磁石をその液通過路 1 1、1 2 の外部に設け、磁場を発生させ、もしくは除去するように、または、磁性体物質を設けその磁性体物質を磁化させもしくは消磁するように設けても良い
- 20   。

- その各液通過路 1 1、1 2 は、接続部 1 4 を介して貯溜部 1 5 と連通する。接続部 1 4 は、貯溜部 1 5 を形成するシリンダ状のハウジング 1 5 a の下端部に嵌着されネジ止め等によりハウジング 1 5 a に固定されている。接続部 1 4 は 2 本の貫通孔が上下方向に穿設されその貫通孔に吸引方向のみの液
- 25   の通過を可能とする逆止弁 1 4 a と、吐出方向のみの液の通過を可能とする逆止弁 1 4 b とが設けられている。接続部 1 4 のハウジング 1 5 a と接触する外周に沿って O リング用の溝が形成されその溝に O リング 1 4 a が挿着されている。接続部 1 4 の下端は、前記吸引用液通過路 1 1 および吐出用液通過路 1 2 が挿着可能なノズル 1 4 d、1 4 e が設けられている。

その接続部 14 とそのハウジング 15 a により囲まれた貯溜部 15 には、前記圧力調整手段であるプランジャ 16 が摺動可能に設けられている。

プランジャ 16 の外周に沿って、例えば、2 本の溝が形成されその溝には、Oリング 16 a が挿着されている。プランジャ 16 は、例えば、図示されたような上死点 16 c と接続部 14 の上端の下死点との間（ストローク 16 d）で往復運動が可能である。

そのプランジャ 16 を駆動するための機構は、指示によって所定角度および所定スピードでの正逆回転が可能なステッピング・モータ 20 と、そのステッピング・モータ 20 によって回転する回転軸 21 と、その回転軸 21 を軸支する軸受 23 と、その回転軸 21 に固定して設けられ外周面がプーリ等に形成された伝達駆動部 22 と、前記プランジャ 16 の中心近傍に穿設された穴 16 b に固定され、上方向に向かって突出するように設けられたボールねじ 17 と、内周面がそのボールねじ 17 と螺合し外周面がプーリ等に形成され回転可能に支持されたボールねじ駆動部 18 と、そのボールねじ駆動部 18 と前記伝達駆動部 22 との間に掛け渡されたタイミングベルトやチェーン等の伝達機構を有するとともにその伝達機構やボールねじ駆動部 18 を軸支し、支持部材 24 に固定されたアーム状部材 19 と、ハウジング 15 a を固定するとともに支持部材 24 に固定された固定部材 25 とを有する。

さらに、その濃縮装置 10 は、全体として、容器との間を移動可能にする移動部（図示せず）が設けられている。移動部は、濃縮装置 10 を移動可能とする場合と、容器のみを移動可能とする場合および分注装置と容器の双方を移動可能とする場合がある。

尚、本実施の形態では、その濃縮装置 10 自体および容器が載置されたステージの移動を行う移動部（図示せず）が設けられている。さらに、その濃縮装置 10 の圧力調整手段に設けられたステッピングモータ 20 や、磁力手段 13 の磁場の制御を行うための制御手段であるコンピュータ、CRT等の表示部、キーボード、マウス、フロッピー、CDやMO等のプログラムやデータが記録された記録媒体を読み取る読取装置等の入力部、インターネット等に接続する通信部等を有する情報処理装置（図示せず）が設けられている



図 2 は、第二の実施の形態に係る濃縮装置 30 を示すものである。図 1 と同一の符号は同一のもの表すので説明を省略した。図 2 (a) に示すように、第二の実施の形態に係る濃縮装置 30 は、第一の実施の形態に係る濃縮装置 10 と同様に吸引用液通過路 11 と、吐出用液通過路 12 とが下方に向けて平行して突出するように設けられている。

また、各液通過路 11、12 の分離領域部 11b, 12b の外部には、各液通過路 11b, 12b 内に磁場を及ぼし各液通過路 11、12 を通過する懸濁液中の磁性粒子を、その液通過路 11、12 の内壁に吸着して分解することが可能となる磁場を発生し、また除去することが可能でありかつ上下方向に移動可能な磁力手段 31 が設けられている。その磁力手段 31 としては、例えば、永久磁石をその液通過路 11、12 の並び方向およびその液通過路 11、12 の突出方向に対して直交する方向に沿って、その液通過路 11、12 に対して接近および離間可能に設けることによって、電磁石を設けて 15 磁場を発生させもしくは除去させ、または、磁性体物質を設けて、磁化もしくは消磁するようにするのが好ましい。

その各液通過路 11、12 は、接続部 14 を介して貯溜部 32 と連通する。貯溜部 32 は、シリンダ状のハウジング 32a を有し、その下端部では、そのハウジング 32a に嵌着されネジ止め等により固定された接続部 14 を有し、その上端部では、栓部 33 が嵌着されネジ止め等により着脱可能に固定されている。その栓部 33 の下端中央には円柱状の凸部 34 が下方方向に突出するように設けられている。その栓部 33 および凸部 34 の中心軸に沿って、貫通孔 33a が設けられるとともに、その栓部 33 がハウジング 32a と接触する部分には、その栓部 33 の外周に沿って溝 33b が穿設され、O 25 リングが挿着されている。その栓部 33 の外周に沿って環状のフランジ 33c が設けられ、その栓部 33 に挿着されたハウジング 32a のそれ以上の挿入を止めてその貯溜部 32 の位置決めがされる。

前記貯溜部 32 は、貫通孔 32a および通気管 35 を介して、圧力調整手段としてのポンプ 36 と連通する。そのポンプ 36 によって、その貯溜部 3

2に気体が吸入され、貯溜部32から気体が排気される。ポンプ36にはプランジャ37を有し上死点の位置と下死点の位置37cとの間(ストローク37d)で上下運動が可能である。プランジャ37の外周に沿って溝37aが形成され、その溝37aにはOリングが挿着されている。そのプランジャ537の中心近傍に穿設された穴37bに固定され、下方向に向かって突出するように設けられたボールねじ38と、内周面がそのボールねじ38と螺合し外周面がプーリ等に形成され回転可能に支持されたボールねじ駆動部39とを有する。

本実施の形態に係る濃縮装置30は、前記吸引用液通過路11、吐出用液通過路12、接続部14および貯溜部32は、前記栓部33に対して着脱可能に設けられている。その貯溜部32等をその栓部33から取り外した場合には、図2(b)に示すように、前記突起部34にピペットチップ50が装着可能である。そのピペットチップ50は、上部でその突起部34に取り付けられる太径の貯溜部と、その貯溜部と連通し、その貯溜部より細径の液通過路とを有する。その液通過路は、さらに、磁場が内部に及ぼされ磁性粒子を内壁に吸着して分離する分離領域部と、その分離領域部より細径の先端部とを有する。そのピペットチップ50を装着した場合には、前記磁力手段31を、そのピペットチップ50の分離領域部の位置にまで移動させて、その分離領域部に確実に磁場が及ぼされるように設定する。

20 第三の実施の形態に係る細菌等の懸濁液濃縮方法を図3に基づいて説明する。その方法は、前記濃縮装置30を用いるとともに、前記吸引用液通過路11と前記吐出用液通過路12が各々挿入される2つの槽62、63を有する濃縮用の第1の容器60および通常の第2の容器を用いる。

25 その濃縮用の第1の容器60は、2つの槽62、63を仕切る仕切部61の厚さは、その吸引用液通過路11と吐出用液通過路12との間の距離よりも薄く形成されるとともに、各槽62、63の底部は、その仕切部61に向かって下がり勾配をもつ斜面が形成された容器である。

その細菌等の懸濁液の濃縮を行う場合には、予め、目的物質である細菌等が直接的または間接的に捕獲された磁性粒子が懸濁する大量の懸濁液を前記

濃縮用容器 60 の一方の槽 62 に収容しておく。また、その濃縮装置 30 の貯溜部 32 の容量の大きさ程度の水や必要な試薬が溶けた水溶液を通常の容器に収容しておく。

前記磁性粒子が間接的に細菌等を捕獲するには、ハイドロキシアパタイト等のゲル状物質の微小な担体と、目的物質である細菌等と、コーティング等がされていない $\alpha$ -磁性粒子とを液中で混合または懸濁することによって行う。これによって、前記ゲル状物質の微小な担体が、前記細菌等および $\alpha$ -磁性粒子を内部に取り込むことによって、 $\alpha$ -磁性粒子が間接的に細菌等の目的物質を捕獲させるようにする。磁性粒子が直接的に細菌等を捕獲するには、磁性粒子自体に細菌等と結合可能な物質をコーティングした $\beta$ -磁性粒子を用いる。

ステップ S1 で、操作者は、例えば、前記情報処理装置に指示を行うことによって、その濃縮装置 30 を上下方向または水平方向に移動させることによって、その濃縮装置 30 のその吸引用液通過路 11 を、前記濃縮用容器 60 のうち大量の懸濁液が収容されている槽 62 に挿入し、その吐出用液通過路 12 を、その濃縮用容器 60 のうち空の槽 63 に挿入する。次に、前記磁力手段 13 の永久磁石または電磁石を各液通過路 11、12 の外部からその各液通過路 11、12 に接近させることによって、その液通過路 11、12 内に磁場を及ぼす。磁場を及ぼした状態で、前記プランジャ 37 を上死点から下方向に動かすことによって、空気層を挟んだ状態で前記懸濁液を吸引用液通過路 11 を介して貯溜部 15 にまで吸引させる。

そのプランジャ 37 の駆動は、前記ステッピング・モータ 20 の回転駆動によって、回転する回転軸 21 に固定された駆動部 22 の回転が伝達機構を通してボールねじ駆動部 39 を回転させる。そのボールねじ駆動部 39 の回転によって、そのボールねじ駆動部 39 と螺合するボールねじ 38 を回転させずに下方向に並進移動させる。このボールねじ 38 の並進移動によってそのプランジャ 37 が下方向に移動し、吸引用液通過路 11 からその懸濁液をその貯溜部 32 に吸引する。懸濁液を貯溜部 32 に吸引すると、前記プランジャ 37 を下死点から上方向に移動させ、貯溜部 32 に吸引された液は、前

記吐出用液通過路 1 2 を介して前記濃縮用の第 1 の容器 6 0 の他方の空の槽 6 3 に吐出される。

このようにして、その懸濁液が各液通過路 1 1、1 2 を通過する際に、その懸濁液に含まれる目的物質を担体を介して捕獲した  $\alpha$ -磁性粒子が各液通過路 1 1、1 2 の内壁に吸着して分離される。この吸引および吐出は、一方の槽 6 2 の全懸濁液を他方に移し替えるまで行われる。その移し替えが終了した後、濃縮装置 3 0 を上方向に移動して、その容器 6 0 を  $180^\circ$  回転させるかまたはその濃縮装置 3 0 を  $180^\circ$  回転させた後再びその濃縮装置 3 0 を下方向に移動させ、吸引用液通過路 1 1 を移し替えた懸濁液が収容されている槽 6 3 に、吐出用液通過路 1 2 を空の槽 6 2 に挿入する。その際、既に分離した  $\alpha$ -磁性粒子はその液通過路に吸着させたまま、以上のステップを 1 回以上繰り返しても良い。これによって、懸濁液中の  $\alpha$ -磁性粒子を、より一層確実に分離することができる。

ステップ S 2 で、分離された磁性粒子は、その濃縮装置 3 0 に吸着したまま、その濃縮装置 3 0 を上方向に移動させて各液通過路 1 1、1 2 をその第 1 の容器 6 0 から抜き出す。その後、その濃縮装置 3 0 自体を、または、容器を載置するステージを水平移動することによって、濃縮装置 3 0 の下方に第 2 の容器（図示せず）を載置させる。その濃縮装置 3 0 を下方に移動させることによって、各液通過路 1 1、1 2 の双方をその第 2 の容器内に挿入する。次に、その濃縮装置 3 0 の磁力手段 3 1 の永久磁石または電磁石をその液通過路 1 1、1 2 から離間させかつ電磁石では電流を遮断させる。磁場を除去した状態で、その第 2 の容器から液の吸引吐出を繰り返すことによって分離した磁性粒子を液中に再懸濁する。

次に、その圧力調整手段に設けられた栓部 3 3 に装着されていた貯溜部 3 2 を取り外し代わりにピペットチップ 5 0 をその栓部 3 3 の突起部 3 4 に装着する。また、磁力手段 3 1 を移動してそのピペットチップ 5 0 の分離領域部に位置するようにする。そのピペットチップ 5 0 の分離領域部に磁場を及ぼした状態で前記第 2 の容器に収容された懸濁液の吸引および吐出を繰り返すことによって、担体を介して目的物質を捕獲した  $\alpha$ -磁性粒子をそのピペ

ットチップ50に吸着して分離する。そのピペットチップ50の貯溜部は前記濃縮装置30の貯溜部32よりも小容量であり、そのピペットチップ50が吸引できる容量ずつ吸引吐出を繰り返すことによって行われる。

- 分離したその磁性粒子はそのピペットチップ50に吸着されたままで、そのピペットチップ50を上方向に移動し、そのピペットチップ50が装着された装置自体または容器を移動させることによって、1～2ccの液が収容された第3の容器をそのピペットチップ50の下方に位置させる。次に、そのピペットチップ50に対し、前記磁力手段31によって磁場を除去した状態で、吸引および吐出によって懸濁または攪拌し、 $\alpha$ -磁性粒子および目的物質を捕獲した担体から目的物質を溶出または乖離させる。溶出または乖離を行うには、担体がハイドロキシアパタイトの場合には、pHを調整した水溶液を用いること等によりハイドロキシアパタイトをゾル化または溶かすことによって、また、担体がセルロースキャリアの場合には、攪拌等の物理的処理によって、目的物質を溶出または乖離する。次に、磁力手段31によってそのピペットチップ50の分離領域部に磁場を及ぼしてその懸濁液を吸引吐出することによって、 $\alpha$ -磁性粒子のみを分離領域部に吸着して分離し、分離した $\alpha$ -磁性粒子を除去し、目的物質が懸濁する濃縮された懸濁液を得ることができる。このようにして得られた目的物質が懸濁する濃縮液を用いて種々の処理を行うことができる。
- 20 その目的物質が、O157:H7に代表されるようなベロ毒素産生性大腸菌(VTEC)のベロ毒素(VT)遺伝子である場合に、得られたその遺伝子の懸濁液の増幅処理を行う場合について説明する。

- 前記濃縮装置30のピペットチップ50を取り外し、新たなピペットチップを装着する。また、前記ベロ毒素遺伝子を捕獲するために、抗体コーティング磁性粒子( $\beta$ -磁性粒子)を用いる。
- 25

第四の実施の形態に係る濃縮装置70について、図4に基づいて説明する。

本実施の形態に係る濃縮装置70は、吸引口74および吐出口75を有し内部を液体が通過する弾性体で形成された液通過路71と、その液通過路7

1の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的または間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を液通過路内に及ぼすことが可能な磁力手段72と、その液通過路71の途中に設けられ、その液通過路71に液体が通過するように駆動するための  
5 ペリスターポンプ（蠕動ポンプ）73とを有するものである。

その濃縮装置70は、吸引口74を挿入した、目的物質を捕獲した懸濁液を収容した槽76と、吐出口75を挿入した異なる槽77とを用いたものである。

前記ペリスターポンプ73は、弾性体で形成されたその液通過路71を液  
10 体の移送方向に沿って、その液通過路71を外部から、回転押圧部78によってその液通過路71を順次押圧し液体の移送方向に潰して収縮させながら液体を移送するものである。

そのペリスターポンプ73を駆動させると、前記弾性体で形成されたその液通過路71を回転押圧体が潰しながら進んで液体を吸引口から吐出口に向  
15 かって液体が通過する。その際、磁力手段72の磁場の影響で、その懸濁液中に含有する磁性粒子がその液通過路71の所定位置の内面に吸着して分離される。

尚、前記液通過路71の途中に、分離した磁性粒子を再懸濁して吐出するために液通路を切り替える切り替え機構を設けても良い。また、前記液通過  
20 路71は、磁性粒子が吸着して分離した場合に、前記ポンプ73等の機構部分から全体または一部が取り出し可能に設けるようにしても良い。本実施の形態によれば、液体を液通過路を通過させるための機構と、液体とが全く接触しないので、その機構が液体によって汚染等されることが全くない。従って、液通過路を代えるだけで、再利用が可能であり、信頼性のある分離およ  
25 び濃縮を行うことができる。また、液通過路のみを取り出して、さらなる処理に利用することができるので、コンタミネーションを避け、また処理を迅速化、簡単化することができる。

以上の実施の形態は、本発明をより良く理解させるために具体的に説明したものであって、別形態を制限するものではない。したがって、発明の主旨

を変更しない範囲で変更可能である。例えば、以上の説明では、圧力調整手段は、ピストンまたはピストン式ポンプの場合について説明したが、その場合に限られることなく、遠心式ポンプを用いても良い。また、ピストンは、ボールねじ機構で駆動する場合についてのみ説明したが、その場合に限られることなく、カム機構やリンク機構によって駆動する場合も含む。また、実施の形態で説明した部品のサイズ、素材、構造等や、用いた試薬の種類もこれに限定されるものではない。

## 請 求 の 範 囲

1. 吸引方向のみの液体の通過が可能な吸引用液通過路と、吐出方向のみの液体の通過が可能な吐出用液通過路と、その液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的または間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を少なくとも一方のその液通過路内に及ぼしかつ磁場を除去することが可能な磁力手段と、その各液通過路と連通し吸引された液体を貯溜する貯溜部と、その貯溜部内の圧力を調整して液体を吸引しかつ吐出する圧力調整手段とを有するものであることを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮装置。

2. 前記吸引用液通過路および吐出用液通過路が前記貯溜部の下側で下方に突出し間隔を空けて並設され、その貯溜部の上側に前記圧力調整手段が設けられたものであることを特徴とする請求項 1 記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

3. 前記吸引用液通過路と前記吐出用液通過路は、各々、細径の先端部分と太径の部分との略 2 段形状に形成されたものであることを特徴とする請求項 1 または請求項 2 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

4. 前記磁力手段は、永久磁石、電磁石または磁性体物質を前記液通過路の少なくとも一方の外部に設けたものであることを特徴とする請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

5. 前記貯溜部はシリンダを有し、前記圧力調整手段は、そのシリンダ内に嵌挿して摺動するプランジャを有するものであることを特徴とする請求項 1 ないし請求項 4 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

6. 前記圧力調整手段は、その貯溜部に設けられた通気路と、その通気路を介してその貯溜部内の気体の吸入および排出を行うポンプとを有するものであることを特徴とする請求項 1 ないし請求項 5 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

7. 前記貯溜部は前記圧力調整手段に対して着脱可能に設けられたものであることを特徴とする請求項 1 ないし請求項 6 のいずれかに記載の磁性



粒子を利用した濃縮装置。

8. 前記圧力調整手段は、前記貯溜部を取り外した場合には、液体の吸引方向および吐出方向の双方の通過が可能な1本のピペット・チップが装着可能なものであることを特徴とする請求項7に記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

9. 前記磁性粒子には、ハイドロキシアパタイトが焼結して固定され、その磁性粒子が懸濁する液のpHを調整して前記ハイドロキシアパタイトをゾル化またはゲル化することによって、前記ハイドロキシアパタイトに目的物質を捕獲させまたは乖離させることを特徴とする請求項1ないし請求項10のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

10. 吸引口および吐出口を有し内部を液体が通過する液通過路と、その液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的または間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を液通過路内に及ぼすことが可能な磁力手段と、その液通過路に設けられ、その液通過路の液体の移送方向に沿って、液体を移送するポンプを有することを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮装置。

11. 前記液通過路の途中に、分離した磁性粒子を再懸濁して吐出するために液通路を切り替える切り替え機構を設けたことを特徴とする請求項10記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

12. 前記液通過路の全体またはその液通過路の一部は、分離した磁性粒子を吸着したまま、取り出し可能に設けられたものであることを特徴とする請求項10または請求項11のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

13. 前記磁性粒子には、ハイドロキシアパタイトが焼結して固定され、その磁性粒子が懸濁する液のpHを調整して前記ハイドロキシアパタイトをゾル化またはゲル化することによって、前記ハイドロキシアパタイトに目的物質を捕獲させまたは乖離させることを特徴とする請求項10ないし請求項12のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

14. 請求項1ないし請求項13のいずれかに記載された前記濃縮装

置と、その濃縮装置自体および／またはその濃縮装置外に載置された容器、の移動を可能とする移動手段と、その濃縮装置自体および／または移動手段の動作の制御を行う制御手段と、を有することを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮システム。

5        1 5.    前記容器は、前記液通過路の吸引口と前記液通過路の吐出口が各々挿入される2つの槽を有し、2つの槽を仕切る仕切部の厚さは、その吸引口と吐出口との間の距離よりも薄く形成されるとともに、各槽の底部は、その仕切部に向かって下がり勾配の斜面を有することを特徴とする請求項14に記載の磁性粒子を利用した濃縮システム。

10        1 6.    前記制御手段は、前記磁力手段がその液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、目的物質が直接的または間接的に捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引して、前記液通過路を通りその懸濁液を通過させることによって、前記磁性粒子をその液通過路の内壁に吸着させて分離し、

15        前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に前記吸引口および吐出口を挿入し、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引しかつ吐出することによって再懸濁して細菌等の目的物質の懸濁液の濃度を高めることを特徴とする請求項14に記載の磁性粒子を利用した濃縮システム。

20        1 7.    懸濁液中の細菌等の目的物質を直接的または間接的に磁性粒子に捕獲させる捕獲工程と、

目的物質を捕獲した磁性粒子が懸濁する第1の容量をもつ懸濁液を液通過路を通過させる際に、その液通過路の外部からその液通過路内に磁場を及ぼすことによってその通過路の内壁に磁性粒子を吸着して分離する分離工程と

25        、

目的物質を捕獲した磁性粒子を分離したその液通過路に磁場を及ぼさない状態で、第1の容量よりも小さい第2の容量をもつ液を通過させることによってその液中に目的物質を捕獲した磁性粒子を再懸濁する再懸濁工程と、

その懸濁液中に懸濁する目的物質を捕獲した磁性粒子から目的物質を溶出

し、磁性粒子のみを分離して、目的物質が濃縮された懸濁液を得る溶出工程とを有することを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮方法。

18. 前記分離工程は、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器からその懸濁液を吸引して、その液通路5の外部から磁場を及ぼす状態で、その懸濁液をその通過路を通過させることによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、

前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引しかつ吐出することによって再懸濁することを特徴とする請求項17に記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

19. 前記分離工程は、磁力手段によって吸引用液通過路および吐出力液通過路に外部から磁場を及ぼす状態で、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引用液通過路を介して懸濁液を貯溜部に吸引し、吐出用液通過路を介して貯溜部から吐出することによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、

前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さくかつその貯溜部の容量と同程度以上の第2の容量の液が収容された容器に前記吸引用液通過路と吐出用液通過路を挿入し、磁力手段により磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引しかつ吐出することによって再懸濁することを特徴とする請求項17または請求項18のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

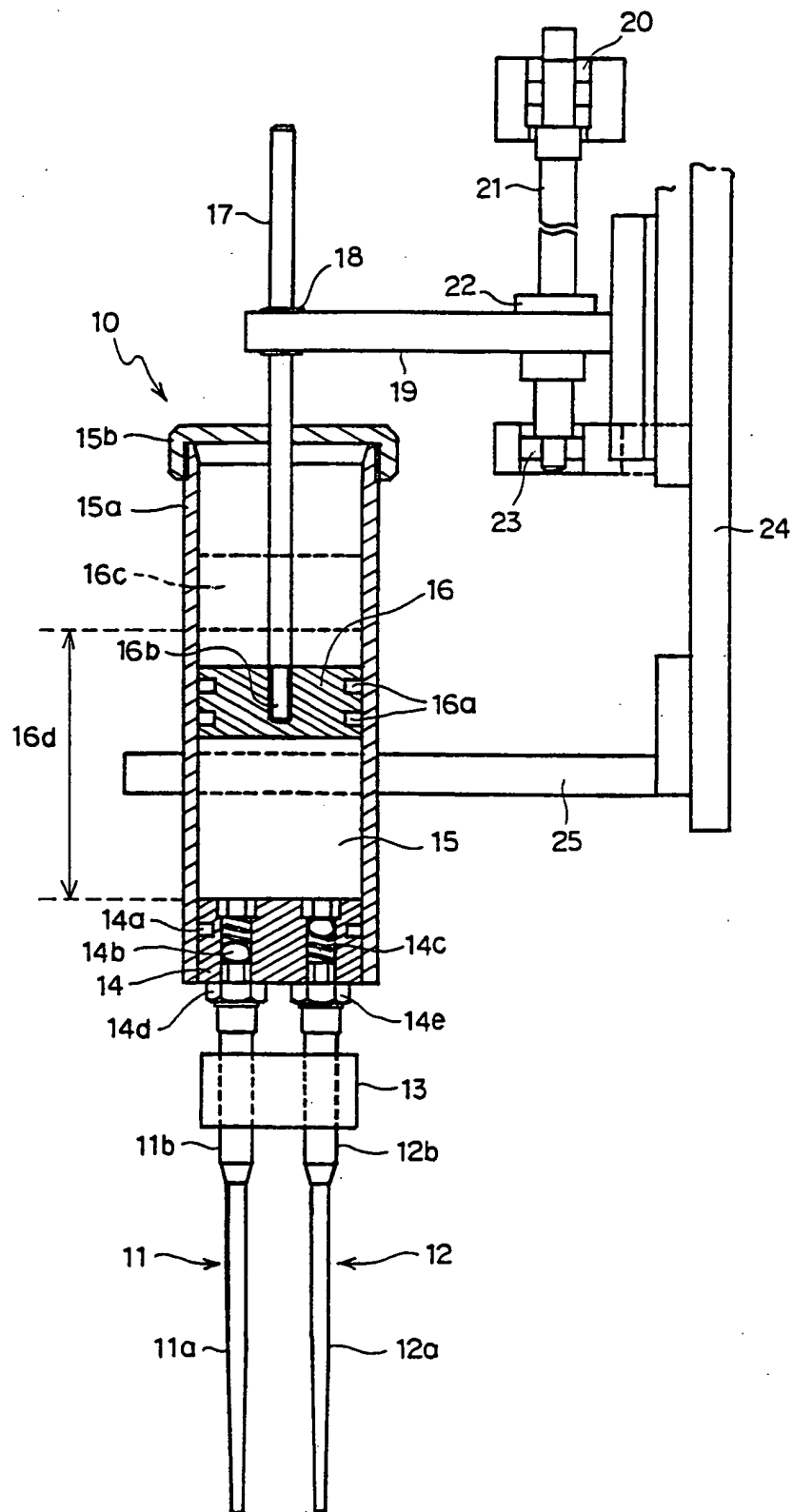
20. 前記再懸濁工程によって再懸濁された懸濁液が収容された容器に、液体の吸引方向および吐出方向の双方の液体の通過が可能な液通過路およびその通過路と連通し第2の容量よりも小さい容量をもつ貯溜部をもち、その液通過路の外部から液通過路内に磁場を及ぼしかつ除去する磁力手段をもつピペット装置によって、その液通過路に磁場を及ぼした状態でその懸濁液を吸引および吐出することにより懸濁液中の磁性粒子を分離し、第2の容量よりも小さい第3の容量をもつ液体中に再懸濁したことを特徴とする請求

項 17 ないし請求項 19 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

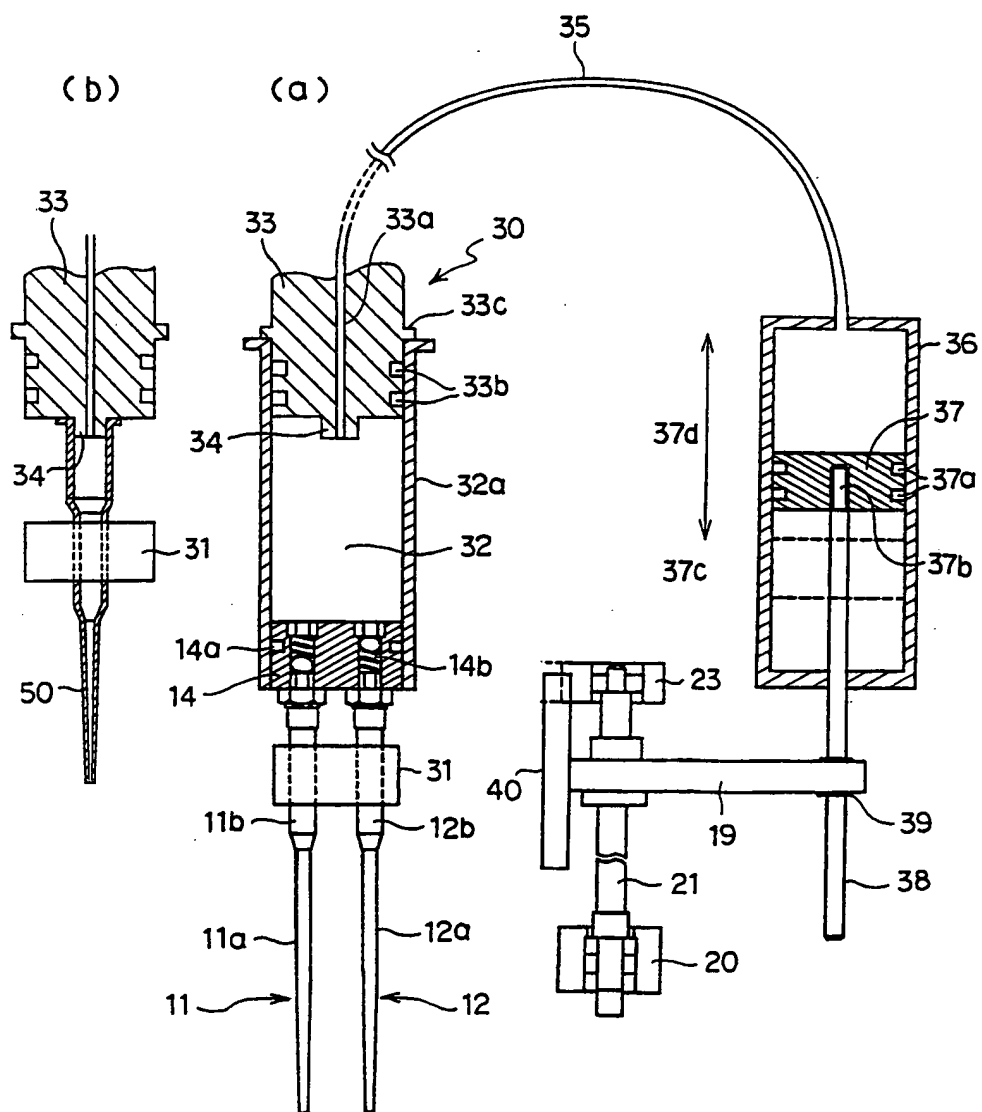
21. 前記分離工程は、第 1 の容器に収容された全懸濁液を第 2 の容器に移した後、その第 2 の容器に収容された液を、その液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、その液通過路を介して吸引し、その第 1 の  
5 容器にその液通過路を介して吐出させることによって、第 2 の容器に収容された全液を第 1 の容器に移すことを特徴とする請求項 17 ないし請求項 20 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

22. 前記分離工程は、第 1 の容器に収容された全懸濁液を第 2 の容器に移した後、その第 2 の容器に収容された液を、その吸引用液通過路およびその吐出用液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、前記吸引用通過路を介して吸引し、その第 1 の容器に吐出用通過路を介して吐出させることによって、第 2 の容器に収容された全液を第 1 の容器に移すことを特徴とする請求項 17 ないし請求項 21 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。  
10

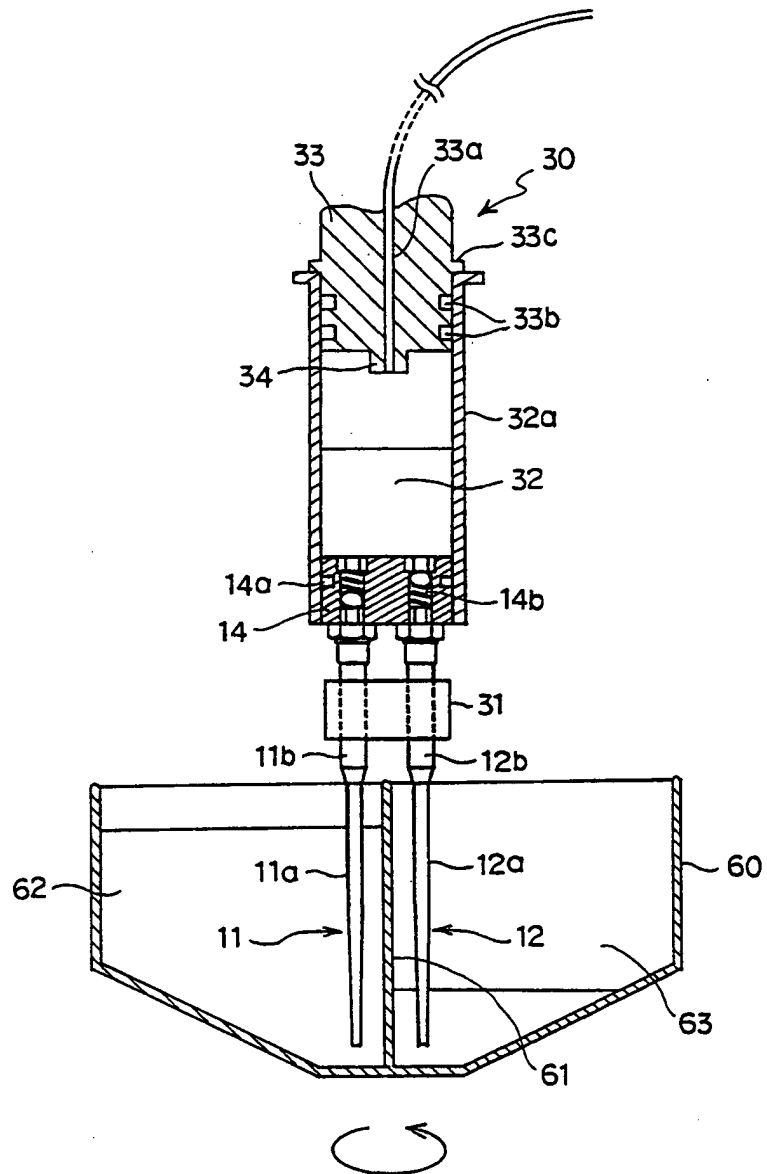
第1図



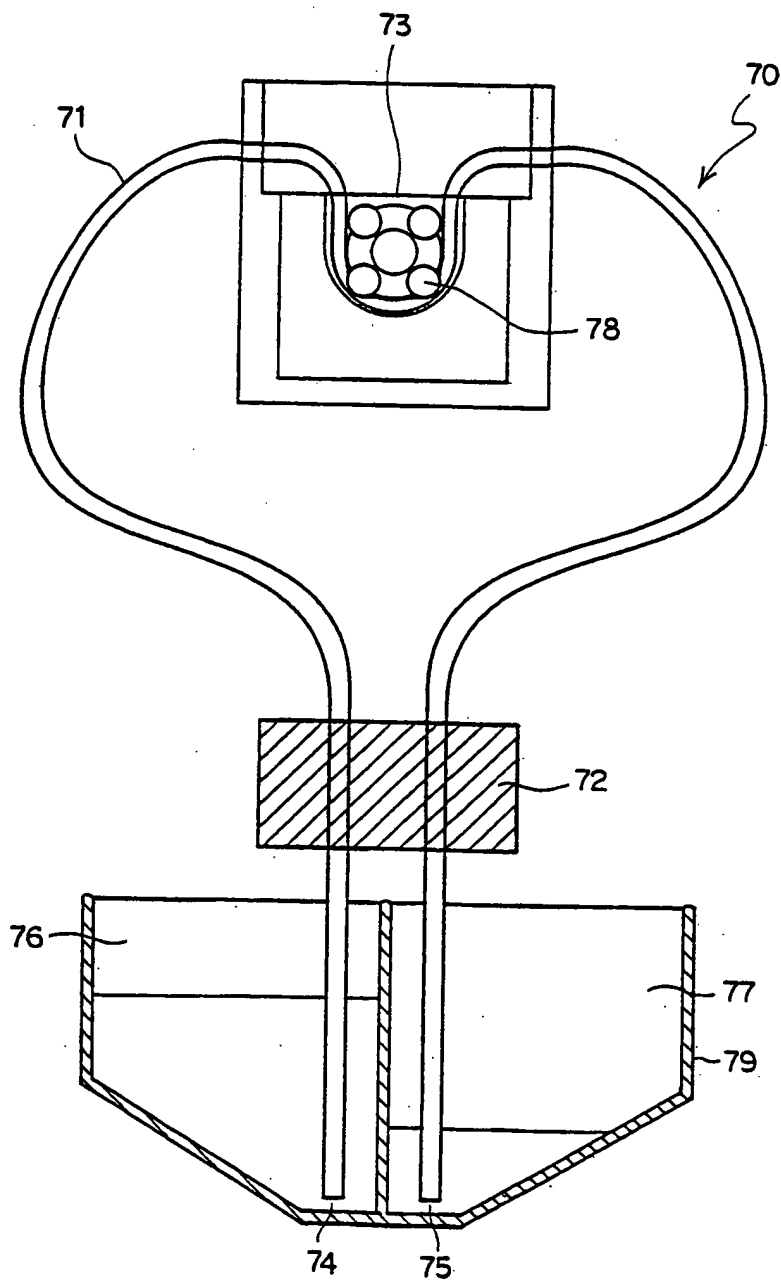
第2図



第3図



第4図





1 0、3 0、7 0…濃縮裝置

1 1…吸引用液通過路

1 2…吐出用液通過路

1 3、3 1、7 2…磁力手段

1 5、3 2…貯溜部

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00204

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>7</sup> G01N1/28, G01N1/00, G01N30/00, G01N30/48, B03C1/00, C12Q1/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>7</sup> G01N1/28, G01N1/00, G01N30/00, G01N30/48, B03C1/00, C12Q1/68		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JOIS (JICST) [magnetic particle + magnetic beads] * [hydroxyapatite] (in Japanese)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 10-332687, A (Fujirebio Inc.), 18 December, 1998 (18.12.98),	1-8, 10-12, 17
A	Par. Nos. [0053], [0054]; Fig. 5 (Family: none)	9
Y	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No. 77639/1984 (Laid-open No. 189834/1985)	1-8, 10-12, 17
A	(Shimadzu Corporation), 16 December, 1985 (16.12.85), Full text; Figs. 1 to 2 (Family: none)	9
Y	WO, 96/29602, A1 (PRECISION SYSTEM SCIENCE CO., LTD), 26 September, 1996 (26.09.96),	1-8, 10-12, 17
A	Full text; Figs. 7, 9 to 11, 13, 22 to 23 & JP, 8-320274, A & EP, 763739, A & US, 5895631, A	9, 13-16, 18-22
Y	US, 4141687, A (TECHNICON INSTRUMENTS CORPORATION), 27 February, 1979 (27.02.79),	1-8, 10-12, 17
A	Full text & JP, 60-122374, A & GB, 1575805, A	9, 13-16, 18-22
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 06 April, 2000 (06.04.00)		Date of mailing of the international search report 18 April, 2000 (18.04.00)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00204

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 10-155481, A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 16 June, 1998 (16.06.98), Claims 13 to 14; Par. No. 0010 & EP, 814156, A2 & US, 5916775, A	9, 13

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int.Cl <sup>7</sup> G01N1/28, G01N1/00, G01N30/00, G01N30/48, B03C1/00, C12Q1/68		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int.Cl <sup>7</sup> G01N1/28, G01N1/00, G01N30/00, G01N30/48, B03C1/00, C12Q1/68		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2000年 日本国登録実用新案公報 1994-2000年 日本国実用新案登録公報 1996-2000年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
JOIS (JICSTファイル) [磁性粒子+磁性ビーズ]*[ハイドロキシアパタイト+ヒドロキシアパタイト]		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 10-332687, A (富士レビオ株式会社)	1-8, 10-12, 17
A	18. 12月. 1998 (18. 12. 98) 段落0053-0054及び図5 (ファミリーなし)	9
Y	日本国実用新案登録出願59-77639号 (日本国実用新案登録 出願公開60-189834号) の願書に添付した明細書及び図面 の内容を撮影したマイクロフィルム (株式会社島津製作所)	1-8, 10-12, 17
A	16. 12月. 1985 (16. 12. 85) 全文、第1-2図 (ファミリーなし)	9
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー		
「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		
の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	06. 04. 00	国際調査報告の発送日
国際調査機関の名称及びあて先		
日本国特許庁 (ISA/JP)		
郵便番号100-8915		
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		
特許庁審査官 (権限のある職員)		2 J 7519
小山 茂 印		
電話番号 03-3581-1101 内線 3251		

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO, 96/29602, A1	1-8, 10-12, 17
A	(PRECISION SYSTEM SCIENCE CO., LTD) 26. 9月. 1996 (26. 09. 96) 全文 & JP, 8-320274, A & EP, 763739, A & US, 5895631, A	9, 13-16, 18-22
Y	US, 4141687, A	1-8, 10-12, 17
A	(TECHNICON INSTRUMENTS CORPORATION) 27. 2月. 1979 (27. 02. 79) 全文 & JP, 60-122374, A & GB, 1575805, A	9, 13-16, 18-22
A	JP, 10-155481, A (理化学研究所) 16. 6月. 1998 (16. 06. 98) 請求項13-14、段落0010 & EP, 814156, A2 & US, 5916775, A	9, 13